

皮膚透過実験における新規三次元培養ヒト皮膚モデルの有用性評価

○中田圭一、藤堂浩明、杉林堅次

(城西大・薬)

【背景】

皮膚局所に適用する医薬品製剤には、皮膚組織やその周辺部位での薬効（局所作用）を期待するものだけでなく、いわゆる全身作用を期待する経皮吸収型製剤があり、さらに、最近では機能を有する化粧品も市場を賑わすようになってきた。したがって、現在では、治療薬だけでなく化粧品有効成分の皮膚透過性や経皮吸収性を正しく評価する方法論の確立が以前にも増して必要とされる。

現在、薬物の皮膚透過性や透過速度はヒト皮膚を用いて主に *in vitro* 実験法で評価されている。しかし、本邦では新鮮なヒト皮膚を必要量入手できるとは限らないので、動物皮膚や人工膜が使われているが、動物皮膚の使用に当たっては動物愛護の問題を回避できず、また、人工膜では代謝酵素やトランスポーターが関与する皮膚透過を表現できない。このような状況下、三次元培養ヒト皮膚モデルが代替材料として有用である可能性が考えられた。

現在、いくつかの三次元培養ヒト皮膚モデルが入手できる。その中で、今回は新たに開発された三次元培養ヒト表皮モデルである *LabCyte* EPI-MODEL (J-TEC) を選択し、種々薬物の皮膚透過実験を行い、代替膜としての *LabCyte* の有用性を調べた。また、以前我々が検討した LSE-high（東洋紡）との相違点について検討した。

【方法】

モデル薬物に様々な油水分配係数 ($\log K_{ow}$) を有するアンチピリン (ANP、 $\log K_{ow} = -1.507$)、アミノピリン (AMP、1.065)、安息香酸 (BA、1.41)、カフェイン (CAF、-0.123)、フルルビプロフェン (FP、2.179)、イソソルビド硝酸塩 (ISMN、-0.151)、イソソルビド二硝酸塩 (ISDN、1.225) を選択した。孔を開けたシリコン膜 (有効透過面積 0.50 cm²) に培養カップから切り離した *LabCyte* をはさみ、それを縦型 Franz セル (レシーバー容量 4 mL) に取り付け、角層側に各種薬物水溶液を適用した。経時的にレシーバー液 (pH 7.4 リン酸緩衝液) をサンプリングし、サンプリングしたレシーバー液中の薬物濃度を HPLC で測定し、得られた累積皮膚透過量を計算した。また、速度論的手法により各薬物の皮膚/基剤分配係数 (K) と皮膚バリアー中拡散係数 (D) を求めた。

【結果】

水溶性薬物である ANP、CAF、ISMN は実験開始後 60 分で解析可能な透過量が得られた。その透過データの速度論解析から、3 種類の D には違いはなく、 K が異なっていた。また、LSE-high と比べて D は約 4000 倍低く、 K は数十倍高かった。一方、脂溶性薬物である AMP、BA、FP、ISDN は実験開始後 12 時間経ってもレシーバー側に現れなかった。そこで、実験終了後に角層側に適用した薬物水溶液を回収し、測定したところ、適用時の薬物濃度と比べても減少していなかった。このことから脂溶性薬物は *LabCyte* EPI-MODEL 中にほとんど浸透しないと考えられる。

今回の実験から、水溶性薬物では *LabCyte* は皮膚透過実験に十分に代替膜として有用であると示唆された。しかし、脂溶性薬物では長時間の透過実験でも皮膚透過がみられなかったことから、代替膜として適さず、透過しなかった原因の究明および代替膜として使用するための、さらなる実験が必要であることが明白となった。